

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-189846

(43)Date of publication of application : 08.07.2003

(51)Int.Cl. C12N 1/14
A23L 1/27
A23L 1/30
C12P 23/00
// (C12N 1/14
C12R 1:645)
(C12P 23/00
C12R 1:645)

(21)Application number : 2002-231126 (71)Applicant : NATIONAL INSTITUTE OF
ADVANCED INDUSTRIAL &
TECHNOLOGY

(22)Date of filing : 08.08.2002 (72)Inventor : YAMAOKA YUKIYASU

(30)Priority

Priority number : 2001318746 Priority date : 16.10.2001 Priority country : JP

(54) NEW MICROORGANISM AND METHOD FOR PRODUCING NATURAL CAROTENOID THEREWITH

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for simply and efficiently producing astaxanthin and canthaxanthin in large amounts from easily available raw materials.

SOLUTION: This method for producing the astaxanthin and the canthaxanthin is characterized by culturing *Thraustochytrium* sp-CHN-3 (FERM P-18556) belonging to the genus *Labyrinthula* and the species *Thraustochytrium* and capable of producing the astaxanthin and the canthaxanthin to accumulate the astaxanthin and the canthaxanthin in the microbial cells, separating the microbial cells, and then recovering the astaxanthin and the canthaxanthin from the separated cells by a solvent extraction treatment.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-189846

(P2003-189846A)

(43) 公開日 平成15年7月8日(2003.7.8)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	ページ数(参考)
C 1 2 N 1/14		C 1 2 N 1/14	A 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/27		A 2 3 L 1/27	4 B 0 6 4
1/30		1/30	Z 4 B 0 6 6
C 1 2 P 23/00		C 1 2 P 23/00	
// (C 1 2 N 1/14		C 1 2 R 1:645	
審査請求 未請求 請求項の数6 OL (全 6 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2002-231126(P2002-231126)

(22) 出願日 平成14年8月8日(2002.8.8)

(31) 優先権主張番号 特願2001-318746(P2001-318746)

(32) 優先日 平成13年10月16日(2001.10.16)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 301021533

独立行政法人産業技術総合研究所

東京都千代田区霞が関1-3-1

(72) 発明者 山岡 到保

広島県呉市広末広2丁目2番2号 独立行

政法人産業技術総合研究所中国センター内

(74) 代理人 100071825

弁理士 阿形 明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規な微生物及びそれを用いた天然カロテノイドの製造方法

(57) 【要約】

【課題】 入手容易な原料から、簡単かつ効率よくアスタキサンチン及びカンサキサンチンを大量生産しうる方法を提供する。

【解決手段】 ラビリンチュラ属スラウストキトリウム種に属するアスタキサンチン及びカンサキサンチン生産菌スラウストキトリウムエスピーCHN-3 (FERM P-18556) を培養し、菌体中にアスタキサンチン及びカンサキサンチンを蓄積させたのち、菌体を分離し、分離した菌体から溶媒抽出処理によりアスタキサンチン及びカンサキサンチンを回収することにより製造する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ラビリンチュラ属スラウストキトリウム
 種に属するアスタキサンチン及びカンサキサンチン生産
 菌スラウストキトリウムエスピーCHN-3 (FERM
 P-18556)。

【請求項2】 請求項1記載の微生物を培養し、菌体中
 にアスタキサンチン及びカンサキサンチンを蓄積させた
 のち、菌体を分離し、分離した菌体から溶媒抽出処理に
 よりアスタキサンチン及びカンサキサンチンを回収する
 ことを特徴とするアスタキサンチン及びカンサキサンチ
 ンの製造方法。

【請求項3】 培養をpH4~12、酸素リッチの条件
 下で行う請求項2記載の製造方法。

【請求項4】 培養を、栄養源として、ショ糖、グル
 コース及びフルクトースの中から選ばれた少なくとも1種
 の糖類を用いて行う請求項2又は3記載の製造方法。

【請求項5】 培養を光照射下で行う請求項2、3又は
 4記載の製造方法。

【請求項6】 ラビリンチュラ属スラウストキトリウム
 種に属するアスタキサンチン及びカンサキサンチン生産
 菌スラウストキトリウムエスピーCHN-3 (FERM
 P-18556) の培養物、菌体又は菌体処理物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ラビリンチュラ
 (Labyrinthula) 属スラウストキトリウム
 (Thraustochytrium) 種に属する新規
 な微生物及びそれを用いて天然カロチノイドのアスタキ
 サンチン及びカンサキサンチンを製造する方法に関する
 ものである。

【0002】

【従来の技術】アスタキサンチン及びカンサキサンチ
 ンは、微生物の菌体、藻類、微細藻類などの植物や動物に
 天然カロチノイドとして広く存在する色素であり、老化
 防止剤、解毒剤、ガン予防剤、養殖魚類の色調改善剤と
 して利用されている。これらの天然カロチノイド中のア
 スタキサンチンは、オキアミやズワイガニの殻から抽出
 されているが、これらにおける含有量が極めて低い上
 に、抽出条件がむずかしく、しかも海洋に限られたとこ
 ろにのみ生息する生物資源であることから、安定した原
 料供給を確保することが困難であるため、工業的生産に
 は不向きである。

【0003】また、アスタキサンチンは赤色酵母 (Ph
 affia rhodozyma) により生産される
 が、この赤色酵母は増殖速度が遅く、生産量が少ない上
 に、強固な細胞壁を有するため、生産されたアスタキサ
 ンチンの抽出が困難な上に、(3R, 3R') 体の含有
 率が高く、化学構造が天然のアスタキサンチンとは反対
 の配置をとる化合物を副生するため、生産効率が低くな
 るのを免れない。

【0004】そのほか、アスタキサンチンを生産する緑
 藻類 (Haematococcus pluvialis)
 s) も知られているが、これは増殖速度が遅く、細胞壁
 が強固であるため、生産効率が低い上に、雑菌の汚染を
 起しやすく、しかも特殊な培養装置を用いて強い光を照
 射しながら培養する必要があるなど、製造上種々の制約
 を伴うため、工業的に実施するには多くの問題がある。

【0005】一方、カンサキサンチンについては、ある
 種のキノコ、魚類、甲殻類中に存在し、またプレビバク
 テリウム属、ロドコッカス属に属する微生物により生産
 されることが知られており、化学合成により人工的に得
 る方法も開発されているが、いずれも生産効率が低いた
 め、工業的な生産は行われていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような
 事情のもとで、従来方法のもつ欠点を克服し、入手容易
 な原料から、簡単かつ効率よくアスタキサンチン及びカ
 ンサキサンチンを大量生産しうる方法を提供することを
 目的としてなされたものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者は、瀬戸内海で
 採取された海洋性微生物の生態について種々研究を重ね
 た結果、その中にアスタキサンチン及びカンサキサンチ
 ンの生産能力の高い新規な微生物が存在すること、した
 がってこの微生物を培養することにより、アスタキサ
 ンチン及びカンサキサンチンを効率よく製造しうることを
 見出し、この知見に基づいて本発明をなすに至った。

【0008】すなわち、本発明は、ラビリンチュラ属ス
 ラウストキトリウム種に属するアスタキサンチン及びカ
 ンサキサンチン生産菌スラウストキトリウムエスピーC
 HN-3 (FERM P-18556)、及びこの微生
 物を培養し、菌体中にアスタキサンチン及びカンサキサ
 ンチンを蓄積させたのち、菌体を分離し、分離した菌体
 から溶媒抽出処理によりアスタキサンチン及びカンサキ
 サンチンを回収することを特徴とするアスタキサンチン
 及びカンサキサンチンの製造方法を提供するものであ
 る。

【0009】

【発明の実施の形態】図1は、本発明の微生物の形態を
 示す顕微鏡写真である。この図から分るように、本発明
 の微生物は、ヤブレッツボカビ類のスラウストキトリウム
 (Thraustochytrium) の特徴である球
 形ないし長円球状の外質ネットをもつ細胞からなっており、
 かつサゲノジェネートゾームが細胞体の1か所のみ
 に存在し、そこから外質ネットを伸長させて基質に進入
 又は付着する性質を有している。これらの点を参考にし
 て、このものがヤブレッツボカビ類に属すると判断され
 た。

【0010】また、図2に示す生活環が形成され、グル
 コースやフルクトースのような糖、酵母エキス、コーン

ステリカーのようなタンパク質などの有機物に富んだ培地では、アメーバ状細胞が現れるが、この点はウケニア(Ukenia)属とは大きく異なっていること、及び2種類のべん毛を有する遊走子を形成する点でスキゾキトリウム(Schizochytrium)種と異なっていることから、スラウストキトリウムと同定される【生物研究社発行、「海洋と生物」32、第23巻、第1号、第15ページ(2001)】。また18SrDNAに基づく分子系統樹においてもスラウストキトリウムであることの裏付けが得られた。

【0011】そして、本発明の微生物は、その栄養細胞が卵形ないしは球形である点で、紡錘形のラビリンチュラ種とは容易に区別されることから、ラビリンチュラ属のスラウストキトリウム種に分類されるものである。この種の菌は、海洋環境に広く存在し、従属栄養で増殖する、いわゆる海生菌として知られる。

【0012】本発明の微生物は、以下に示す菌学的性質から、容易に公知の微生物と区別することができる。

I. 形態学的性質

- (1) 細胞の大きさは、 $10\mu\text{m}$ で卵形である。
- (2) $10\mu\text{m}$ の卵形の遊走子にヘテロコントな鞭毛を有し、運動をする。

II. 培養的性質

- (1) 精質寒天培地で色はピンク、表面はツルツルで生育は早い。

- (2) 液体培養では、24時間で混濁し、ピンクの色を呈する。1リットル当り30g以上のバイオマスが得られる。

III. 生理的性質

- (1) アスタキサンチンとカンザキサンチンを有して、ピンク色である。

- (2) 有機無機の窒素を利用して増殖する。

- (3) pHは5~9、温度は15~35℃が最適生育条件である。

- (4) グルコースやフルクトースを利用してDHA、EPAを多量につくる。これまでのラビリンチュラ属スラウストキトリウム種は、DHAを高含量有し色素を有していなかった。また、細菌に関する試験においては、いずれもマイナスであり、細菌の分類には該当しないことが確認された。

【0013】このようにして、新菌であることが確認された本発明の微生物、すなわちスラウストキトリウムエスピーCHN-3は、受託番号CHN-3(FERM P-18556)として産業技術総合研究所特許寄託センターに寄託されている。

【0014】本発明の微生物は、海洋に生息する $10\mu\text{m}$ 程度の単細胞であり、例えば瀬戸内海の海水中から容易に採取される。原体の採取は、海水中に黒松の花粉を懸濁させ、数日放置したのち、松の花粉を分別し、花粉表面に付着した微生物体を集めることにより行うことが

できる。

【0015】次に、このようにして採取した原体を、糖類培地、すなわち糖類とペプトンを豊富に含む培養液(例えば海水1リットル中にグルコース50gとペプトン1gを含む培地)中で純粋培養する。本純粋培養は、一定温度において光を連続照射しながら、通気攪拌条件で行うのが好ましい。

【0016】このようにして、培養で得られたスラウストキトリウムの細胞を乳鉢で破砕し100%アセトンで抽出し、ODSC18のカラムを装着した高速液体クロマトグラフィー及び高速液体クロマトグラフィー-質量分析計で分離、同定した。このようにして得た液体クロマトグラムを図3に示した。その結果、色素は α -、 β -カロテン、エキネノン、カンザキサンチン、フェノコキサンチン、アスタキサンチンからなっていることが分った。

【0017】本発明のスラウストキトリウムエスピーCHN-3は、このような α -、 β -カロテン、エキネノン、フェノコキサンチン、アスタキサンチンを生産し、特にアスタキサンチン及びカンザキサンチンを大量に細胞内に保有することにより赤色に着色するが、これまで知られているスラウストキトリウム属のラビリンチュラ属の微生物では、このような能力を有していることは知られていなかった。

【0018】このラビリンチュラ属のスラウストキトリウム種に分類される微生物スラウストキトリウムエスピーCHN-3は、糖類、有機窒素、無機塩からなる培地(培養液)中で培養することができる。この際の糖類の例としては、グルコース、ショ糖、フルクトースやそれらを含むもの、例えば水飴などを、有機窒素の例としては、ペプトン、酵母エキスなどを、無機塩の例としては、塩化ナトリウムや塩化カリ、無機リンなどを挙げるることができる。

【0019】グルコース、有機窒素、光エネルギー、無機のリンで生育する微生物であるが、その生産機能を最大限に発揮させるためには光エネルギーとしての照度、温度、培地中の元素組成及び酸素供給量を適切に調整することが必要である。

【0020】例えば、純粋培養の条件としては、空気攪拌、光照射は1,000ルクス以上、温度は20~30℃、好ましくは28℃前後である。培地中のリンの供給源は、 KH_2PO_4 が好ましく、その量としては、1~3g/リットルの範囲が好ましい。また、ラビリンチュラが生育できる範囲(海水1リットルにグルコース60g、ペプトン1g、 KH_2PO_4 1g)の中で、生育が止まると、培地中の栄養元素が一定になるように調整することにより、アスタキサンチン及びカンザキサンチンのそれぞれの生産量を選択的に高めることができる。この培養は、pH4~12、好ましくはpH6~10の範囲で行われ、pHが高くなるほど生産量は向上する。

【0021】さらに、前記したように培養条件、特に培地中の窒素源組成を変化させることにより、スラウストキトリウムへの刺激を強くすると、アスタキサンチン及びカンサキサンチンの生産をさらに増加させることができる。

【0022】したがって、アスタキサンチン及びカンサキサンチンを高収率で製造するには、スラウストキトリウムの生育環境条件を極限条件に保持して、アスタキサンチン及びカンサキサンチンの生産機能を最大限に引き出すのが有利である。それには、例えば酵母エキスを最初の培地から減少させるのが効果的である。

【0023】すなわち、培地から窒素源である酵母エキスを少なくすると、アスタキサンチンの含量が微生物体（乾物）1g中に1.537mgという高い値に増大する。その時点で酵母エキスを含有しない培養液に変え、スラウストキトリウムの細胞に取り込まれる窒素が存在しないので、アスタキサンチン含量が微生物体（乾物）1g中約2mgに増大する。

【0024】また、本発明方法により、アスタキサンチンを製造する場合には、最初酵母エキスを添加した培地を用いて培養し、酵母エキスが消費された後は、窒素源を補給せずに、窒素源無添加条件下で培養するのがよい。このようにして窒素源無添加培地で培養することにより、通常のように窒素添加して行う場合に比べ、アスタキサンチンの収量はそれぞれ5倍以上になる。また、この際、酸素リッチの条件下で培養すると、アスタキサンチンの収量を上げることができる。

【0025】カンサキサンチンを製造する場合には、最初酵母エキスを添加した培地を用いて培養し、酵母エキスが消費された後は、窒素源を補給し、絶えず窒素源添加条件下で培養するのがよい。このようにして窒素源添加培地で培養することにより、窒素無添加して行う場合に比べ、カンサキサンチンの収量はそれぞれ4～5倍以上になる。

【0026】次に、このようにして得られたアスタキサンチン及びカンサキサンチンを多量に含む微生物から効率的にアスタキサンチン及びカンサキサンチンを抽出するには、クロロホルム-メチルアルコール溶液を用いるのが好ましい。

【0027】このようにして、産生したアスタキサンチン及びカンサキサンチンが微生物体から分離される。そして、次にその溶液をシリカゲル充填カラムを通し、メチルアルコール混合溶液で展開することにより、100%の収率でアスタキサンチン及びカンサキサンチンを回収することができる。通常、メチルアルコール混合溶液*

*としては、メチルアルコール90～95体積%で残りがクロロホルムのものが用いられる。

【0028】

【実施例】次に実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらによってなんら限定されるものではない。

【0029】実施例1

瀬戸内海長浜地区の海水にクロマツの花粉を懸濁して採取したスラウストキトリウムエスピー-CHN-1を純化したスラウストキトリウムエスピー-CHN-3を、海水中に、グルコース60g/リットル、ペプトン1g/リットル、リン酸二水素カリウム1g/リットル及びビリン1g/リットルを含む糖類に富んだ培地（pH5.0）に接種し、温度28℃、1000ルクスの光照射下、換気し、かき混ぜながら6日間培養した。次いで培養液を遠心分離して、微生物体を捕集した。このようにして得た顕微鏡写真を図1に示す。

【0030】次に、上記の微生物をアセトン、クロロホルム、メチルアルコールで抽出し、この抽出液をシリカゲル（和光純薬社製、商品名「ワコーゲル」）を充填したカラムを通し、吸着させたのち、ヘキサン-クロロホルム-メチルアルコールで展開することにより、海水1リットル当たりアスタキサンチン及びカンサキサンチンをそれぞれ8.8mg、6.5mg得た。微生物の含有量（アスタキサンチン及びカンサキサンチンは微生物乾燥体中での濃度）は、乾燥微生物体1g中にアスタキサンチン2.8mg、カンサキサンチン2.0mgであった。実施例1で得られるカロチノイドの高速液体クロマトグラムを図3に示す。図中の符号は以下の化合物に対応するものである。1：アスタキサンチン、2：フェノコキサンチン、3：カンサキサンチン、4：エキネノン、5：α-カロチン、6：β-カロチン。

【0031】実施例2

海水中に、グルコース50g/リットル、ペプトン1g/リットル及びリン酸二水素カリウム1g/リットルを含む培地を用い、温度23℃において、（イ）照度1000ルクスで培地を100rpmで浸とう回転する培養、（ロ）暗所で培地を100rpmで浸とう回転する培養、（ハ）照度1000ルクスで静置する培養、及び（ニ）照度1000ルクスで空気を供給して攪拌する培養により、スラウストキトリウムエスピー-CHN-3を6日間培養した。その結果を表1に示す。

【0032】

【表1】

		培養条件			
生成物	アスタキサンチン (mg/g乾物)	(イ)	(ロ)	(ハ)	(ニ)
	バイオマス (g乾物/リットル)	0.8~1.0	0.2~0.5	0.1>	1.0~1.8
		2.01~2.52	1.37~1.48	0.26~0.39	2.46~3.10

【0033】この表から分るように、静置培養ではほとんどアスタキサンチンを生産しない。また振とう回転培養では光を照射した方が多くのアスタキサンチンを得ることができる。さらに酸素供給を高めるために空気を供給する方法を用いることにより、アスタキサンチンの収量を1.8倍向上させることができた。このように培養における好気条件を変えることにより、アスタキサンチンの生成比を変えることができるし、培養液中の酸素濃度を高めることによりアスタキサンチンの生成比率を高めることができる。

【0034】実施例3

実施例1の糖類培地のpHを変化させた場合の実験を14日間継続し、アスタキサンチンの生産量を求め、グラフとして図4に示す。この図から明らかなように、pHの上昇とともにアスタキサンチンの生産量は増大する。

【0035】

*

*【発明の効果】本発明によると、特にアスタキサンチン、カンサキサンチンを高含量で含むスラウストキトリウムそのものを純粋に大量培養でき、かつこれからアスタキサンチン及びカンサキサンチンを簡単に抽出分離することができ、高収率で高純度のアスタキサンチン、カンサキサンチン又は所望に応じアスタキサンチン及びカンサキサンチンの組成の細胞を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

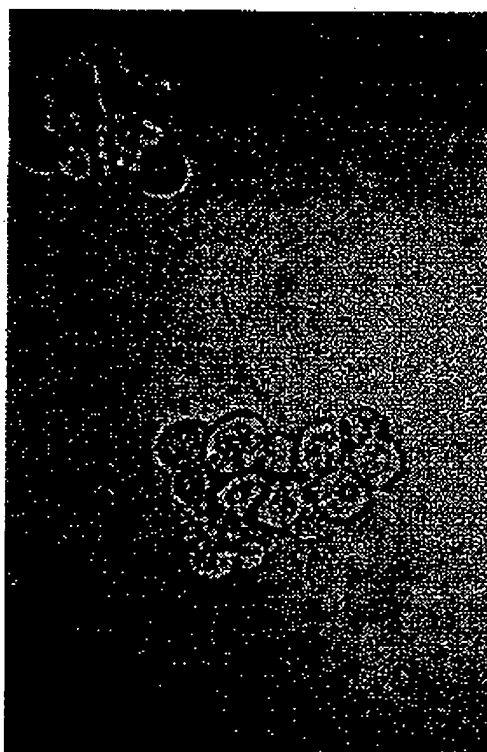
【図1】 本発明微生物の電子顕微鏡写真。

10 【図2】 スラウストキトリウムの生活環を示す説明図。

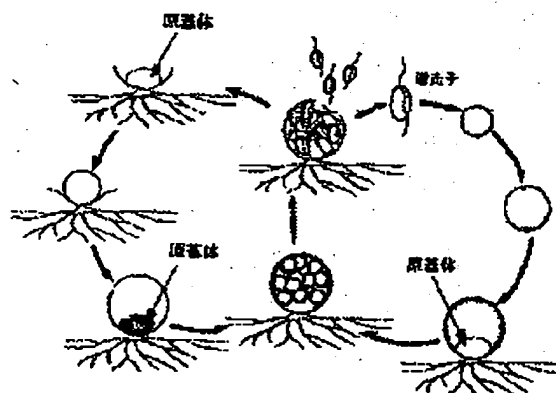
【図3】 実施例1で得た培養物の高速液体クロマトグラム。

【図4】 アスタキサンチンの生産量とpHの関係を示すグラフ。

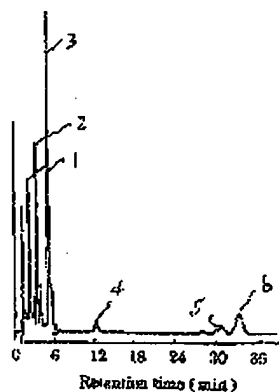
【図1】



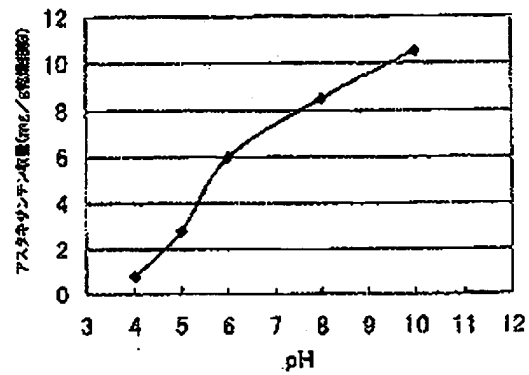
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

識別記号

F I

シーコード (参考)

C 1 2 R 1:645)

(C 1 2 P 23/00

C 1 2 R 1:645)

F ターム (参考) 4B018 MA01 MC01 MD07 MD85 ME06

NE08 ME10 MF01 MF13

4B064 AH01 CA02 CC07 CC12 CC30

DA01 DA10 DA11

4B065 AAS7X BA22 BB15 BC02

BC06 BC50 CA08 CA41 CA43

CA44 CA52

【公報種別】 特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】 第1部門第1区分
 【発行日】 平成17年10月27日(2005.10.27)

【公開番号】 特開2003-189846(P2003-189846A)
 【公開日】 平成15年7月8日(2003.7.8)
 【出願番号】 特願2002-231126(P2002-231126)
 【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 1/14
 A 2 3 L 1/27
 A 2 3 L 1/30
 C 1 2 P 23/00
 //(C 1 2 N 1/14
 C 1 2 R 1:645)
 (C 1 2 P 23/00
 C 1 2 R 1:645)

【F I】

C 1 2 N 1/14 A
 A 2 3 L 1/27
 A 2 3 L 1/30 Z
 C 1 2 P 23/00
 C 1 2 N 1/14 A
 C 1 2 R 1:645
 C 1 2 P 23/00
 C 1 2 R 1:645

【手続補正書】
 【提出日】 平成17年8月29日(2005.8.29)
 【手続補正1】
 【補正対象書類名】 明細書
 【補正対象項目名】 0 0 0 2
 【補正方法】 変更
 【補正の内容】
 【0 0 0 2】

【従来の技術】

アスタキサンチン及びカンサキサンチンは、微生物の菌体、藻類、微細藻類あるいは植物や動物に天然カロチノイドとして広く存在する色素であり、老化防止剤、解毒剤、ガン予防剤、養殖魚類の色調改善剤として利用されている。

これらの天然カロチノイド中のアスタキサンチンは、オキアミやズワイガニの殻から抽出されているが、これらにおける含有量が極めて低い上に、抽出条件がむずかしく、しかも海洋の限られたところのみ生息する生物資源であることから、安定した原料供給を確保することが困難であるため、工業的生産には不向きである。

【手続補正2】
 【補正対象書類名】 明細書
 【補正対象項目名】 0 0 0 5
 【補正方法】 変更
 【補正の内容】
 【0 0 0 5】

一方、カンサキサンチンについては、ある種のキノコ、魚類、甲殻類中に存在し、またプレビバクテリウム属、ロドコッカス属に属する微生物により生産されることが知られて

おり、化学合成により人工的に得る方法も開発されているが、いずれも生産効率が低いため、工業的な生産は行われていない。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

また、図2に示す生活環が形成され、グルコースやフルクトースのような糖、酵母エキス、コーンステイプリアーのようなタンパク質などの有機物に富んだ培地では、アモeba状細胞が現れるが、この点はウルケニア (*Ulkenia*) 属とは大きく異なっていること、及び2種類のべん毛を有する遊走子を形成する点でスキゾキトリウム (*Schizochytrium*) 種と異なっていることから、スラウストキトリウムと同定される [生物研究社発行、「海洋と生物132」、第23巻、第1号、第15ページ(2001)]。

また18SrDNAに基づく分子系統樹においてもスラウストキトリウムであることの裏付けが得られた。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

本発明の微生物は、以下に示す菌学的性質から、容易に公知の微生物と区別することができる。

I. 形態学的性質

(1) 細胞の大きさは、 $10\mu\text{m}$ で卵形である。

(2) $10\mu\text{m}$ の卵形の遊走子にヘテロコントな鞭毛を有し、運動をする。

II. 培養的性質

(1) 糖質寒天培地で色はピンク、表面はツルツルで生育は早い。

(2) 液体培養では、24時間で混濁し、ピンクの色を呈する。

1リットル当り30g以上のバイオマスが得られる。

III. 生理的性質

(1) アスタキサンチンとカンサキサンチンを有して、ピンク色である。

(2) 有機無機の窒素を利用して増殖する。

(3) pHは5~9、温度は15~35℃が最適生育条件である。

(4) グルコースやフルクトースを利用してDHA、EPAを多量につくる。

これまでのラビリンチュラ属スラウストキトリウム種は、DHAを高含量有し色素を有していなかった。

また、細菌に関する試験においては、いずれもマイナスであり、細菌の分類には該当しないことが確認された。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

このようにして、新菌であることが確認された本発明の微生物、すなわちスラウストキトリウムエスピーCHN-3は、受託番号CHN-3 (FERM P-18556) として産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託されている。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

このようにして、培養で得られたスラウストキトリウムの細胞を乳鉢で破碎し100%アセトンで抽出し、ODSC18のカラムを装着した高速液体クロマトグラフィー及び高速液体クロマトグラフィー質量分析計で分離、同定した。このようにして得た液体クロマトグラムを図3に示した。その結果、色素は α -、 β -カロテン、エキネノン、カンサキサンチン、フェノコキサンチン、アスタキサンチンからなっていることが分った。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

本発明のスラウストキトリウムエスピーCHN-3は、このような α -、 β -カロテン、エキネノン、フェノコキサンチン、アスタキサンチンを生産し、特にアスタキサンチン及びカンサキサンチンを大量に細胞内に保有することにより赤色に着色するが、これまで知られているスラウストキトリウムが属するラビリンチュラ属の微生物では、このような能力を有していることは知られていなかった。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0031

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0031】

実施例2

海水中に、グルコース50g/リットル、ペプトン1g/リットル及びリン酸二水素カリウム1g/リットルを含む培地を用い、温度23℃において、(イ)照度1000ルクスで培地を100rpmで振とう回転する培養、(ロ)暗所で培地を100rpmで振とう回転する培養、(ハ)照度1000ルクスで静置する培養、及び(ニ)照度1000ルクスで空気を供給して攪拌する培養により、スラウストキトリウムエスピーCHN-3を6日間培養した。その結果を表1に示す。